

固相吸附毒素跟踪技术监测牡蛎养殖区中 腹泻性贝毒*

宿志伟^{1,2} 赵 峰¹ 刘远平³ 徐 娜⁴ 周德庆^{1①}
姚建华⁵ 李钰金³ 刘志敏⁴

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071; 2. 上海海洋大学食品学院 上海 201306;
3. 荣成泰祥食品股份有限公司 荣成 264300; 4. 威海时进食品检测服务有限公司 荣成 264300;
5. 青岛华测检测技术有限公司 青岛 266101)

摘要 本研究根据固相吸附毒素跟踪技术(Solid phase adsorbent and toxin tracking, SPATT)原理,在牡蛎养殖区内,利用 HP20 大孔吸附树脂对海水中常见的 4 种腹泻贝类毒素:大田软海绵酸(Okadaic acid, OA)及其衍生物鳍藻毒素(Dinophysistoxin-1, DTX-1 和 Dinophysistoxin-2, DTX-2)、米氏螺环毒素(Gymnodimine toxins, GYM)进行吸附,对其吸附效率进行评价;建立了从海水中富集与检测 4 种常见腹泻性贝类毒素的方法;在养殖区内,选取 5 个采样点,每隔 7 d,同步采集海水与牡蛎样品,对牡蛎养殖区海水中和牡蛎体内的腹泻性贝类毒素分布情况进行了检测,分析海水中与牡蛎体内毒素含量的关系。结果显示,HP20 树脂对 4 种腹泻性毒素吸附回收率良好,OA 为 98.9%,DTX-1 为 103.3%,DTX-2 为 93.5%,GYM 为 76.6%。在整个监控期内,除 DTX-2 外,其他 3 种毒素均有检出,OA 浓度为 20.451–422.352 $\mu\text{g}/\text{kg}$,DTX-1 浓度为 15.954–368.678 $\mu\text{g}/\text{kg}$,GYM 浓度为 20.452–282.231 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。在整个监控期内,海水样品中 3 种毒素含量随时间的变化呈现同一分布特征,牡蛎体内毒素含量随着海水中毒素含量的升高而升高,且峰值出现延后现象。研究表明,该技术能有效对养殖区水环境进行时空监控,为海水中和海洋贝类体内毒素的监控提供有力的支持,同时也为贝类毒素预警体系的建立提供方法支持。

关键词 腹泻性贝类毒素;牡蛎养殖区;固相吸附毒素跟踪技术;高相液相色谱-串联质谱
中图分类号 X55 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2016)06-0144-07

近年来,受人类活动的影响,有害赤潮现象在我国频繁发生,伴随赤潮而来的产毒藻类产生的海洋生物毒素,不仅恶化海洋环境、严重影响海洋渔业资源和水产养殖,而且还可以通过食物链,危害人体健康,甚至致人死亡(周秀锦等,2012)。腹泻性贝类毒素(Diarrhetic shellfish poisons, DSP)是其中一类常见的危害严重的海洋毒素,它是由海洋中藻类或微生物产生的一类脂溶性次生代谢产物,主要来自于鳍藻属和原甲藻(马荣桧等,2013)。常见腹泻性贝类毒素主要

有以下 4 种:聚醚类毒素的大田软海绵酸(Okadaic acid, OA)和鳍藻类毒素(Dinophysistoxin-1, DTX-1 和 Dinophysistoxin-2, DTX-2)以及米氏螺环毒素(Gymnodimine toxins, GYM)(母清林等,2013),以 OA 最为常见。人体 DSP 中毒的症状表现为消化功能紊乱,出现腹泻、呕吐、腹痛的同时,并伴有恶心和肠胃绞痛等类似急性肠胃炎的症状(张锐等,2013)¹⁾。每年由贝类毒素引起的人体中毒事件屡见不鲜,给水产品加工业及进出口贸易造成了巨大的经济损失(黄翔等,

* 国家科技支撑计划课题(2015BAD17B01)资助。宿志伟, E-mail: suzw_ysfri@126.com

① 通讯作者:周德庆,研究员, E-mail: zhoudeq@ysfri.ac.cn

收稿日期:2015-10-12, 收修改稿日期:2015-11-10

1) 张锐,兰文开,欧小雷,等. 腹泻性贝毒(DSP)研究进展. 中国环境科学学会学术年会论文集,2013, 65–68

2013; 李兆新等, 2016)。

固相吸附毒素跟踪技术(Solid phase adsorbent and toxin tracking, SPATT)由荷兰学者 MacKenzie 等(2004)提出, 该技术利用吸附树脂主动吸附的原理直接从海水中富集毒素。结合毒素检测技术, 能从时间和空间两方面反应整个水体中毒素变化情况, 能全方位实时监控水体环境, 建立海水中毒素提前预警方法(Caillaud *et al*, 2011)。SPATT 技术在麻痹性贝毒与腹泻性贝毒的富集与检测方面的应用已有报道。Fux 等(2010)经过长时间实验, 应用 HP20 树脂成功吸附 OA 和 DTX-2 毒素, 在实验室中证明该种树脂能有效吸附这两种常见的贝类毒素。Rodriguez 等(2011)证明该技术可用于麻痹性贝毒预警体系的建立。荷兰学者 McCarthy 等(2008)在 Longh Hyne 海洋自然保护区内, 比较了 HP20 大孔型吸附树脂与 SP700 型树脂对腹泻性贝毒的吸附能力, 建立了水体环境中两种腹泻性贝类毒素的时间和空间变化的全方位检测。在国内, 杨守国(2010)¹⁾在胶州湾海域进行相关实验, 研究了 OA 与百日咳毒素(Pertussis toxin, PTX) 2 种毒素随时间的变化趋势, 但未建立整个水体环境内的毒素空间变化规律。上述研究表明, 以 HP20 为代表的树脂能吸附海水中的贝类毒素, SPATT 技术可用于监控水体中贝类毒素的时空变化。但关于树脂对不同贝类毒素的吸附效果(赵慧, 2012)²⁾, 以及树脂吸附贝类毒素的含量同养殖区生物样品中毒素含量之间关系的研究较少(Rodriguez *et al*, 2011)。本研究在前人研究的基础上, 系统研究了 HP20 树脂对 4 种常见腹泻贝类毒素的吸附效果, 在黄海某牡蛎养殖区进行了实验, 调查了海水中 4 种常见的腹泻性贝类毒素, 分析了 4 种毒素在水体环境和牡蛎体内的时间与空间的变化规律, 为我国今后贝类毒素监控体系的建立提供了方法和数据支持。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用毒素标准品购于加拿大海洋生物科学研究所; 甲醇、乙酸乙酯、甲酸、乙腈、异丙醇(色谱纯)为德国默克公司生产, 氨水, 乙酸铵(色谱纯)购于天津科密欧化学试剂公司。

1.2 仪器设备

液相色谱串联四级杆质谱联用仪(Thermo TSQ

Quantum Access, 美国), 配电喷雾离子源(ESI); N-EVAP112 型氮吹仪(Organomation Associates, 美国); KQ-600DE 型超声清洗器(KQ-300VDV, 昆山超声仪器有限公司, 上海); 旋转蒸发仪(R-3, BUCHI, 瑞士); 分析天平, 精确度 0.0001 g (XS10SDU, Mettler Toledo, 瑞士); HP20 大孔吸附树脂(DIAION, 三菱, 日本); 48 μm 聚酯网布; 砂芯滤柱(30 cm \times 2 cm), 可调节流速。

1.3 实验方法

1.3.1 树脂吸附效率实验验证 选用 HP20 型大孔吸附树脂, 用孔径为 48 μm 的聚酯网布缝制成边长为 6 cm \times 6 cm 的正方形布袋, 装入 20 g DIAION HP20 大孔吸附树脂之后密封, 在正方形布袋的一角固定尼龙挂扣。吸附袋在甲醇中浸泡 24 h, 然后用蒸馏水浸泡 2 h, 取出, 换新蒸馏水重复 3 次, 放入密封的塑料袋中, 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下短时间保存, 待用。

选用本底不含 4 种贝类毒素的海水, 分别放置于 5 个相同的容器中, 每个容器放置约 5 L 海水, 并加入 200 μl 浓度为 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的含有 4 种毒素的混合标准溶液, 分别放置已活化的树脂吸附袋, 进行主动吸附, 第 1、3、5、7、9 天取出, 进行样品处理, 设 3 组平行, 取平均值。

1.3.2 海水中贝类毒素富集 根据统计学原理, 在整个养殖区的 4 个角和对角线的交点位置设置 5 个采样点, 7 d 采样 1 次。将吸附袋系于长绳上, 分上、中、下 3 层, 层间隔 2 m, 每层一次固定 2 个吸附袋, 将绳系于固定位置的漂浮杆上, 每间隔 7 d 将吸附袋取出, 再放入新的吸附袋, 提取的吸附袋用蒸馏水冲洗, 放入预先编号的样品袋中, 冰盒保存直至实验室 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下暂存。

将树脂填料转入砂芯滤柱中, 用 50 ml 去离子水洗去盐分, 把柱子中水分正压吹干, 加入 20 ml 甲醇, 滤入蒸发瓶中, 再加入 20 ml 甲醇重复提取 1 次。提取液在 40 $^{\circ}\text{C}$ 蒸去甲醇, 残余 1–2 ml 水, 用 5 ml 二氯甲烷萃取后离心, 取出二氯甲烷层, 重复萃取 1 次, 合并 2 次二氯甲烷萃取液后氮气吹干, 用 1.0 ml 甲醇定容, 以 0.22 μm 的聚四氟乙烯滤膜过滤, 供 LC-MS/MS 检测。

1.3.3 牡蛎中贝类毒素样品的制备、净化 准确称取均质后的样品 2.00 g 于 25 ml 离心管中, 加入 10 ml 80% 甲醇水溶液, 旋涡振荡 1 min, 超声提取 10 min, 4000 r/min 离心 6 min, 将上清液转移至 25 ml 容量瓶

1) 杨守国. 黄海胶州湾海区腹泻性贝毒的特征和时间变化规律研究. 上海海洋大学硕士研究生学位论文, 2010, 1–10

2) 赵慧. 微囊藻毒素的树脂吸附于原位检测方法研究. 中国海洋大学硕士研究生学位论文, 2012, 12–15

中。重复上述操作并合并上清液, 40℃条件下旋蒸(加异丙醇作消泡剂), 旋蒸至小于 5 ml, 在水相中加入 10 ml 乙酸乙酯, 旋涡 1 min, 萃取, 4000 r/min 离心 6 min。重复上述操作, 合并乙酸乙酯层, 40℃旋蒸蒸干, 加 800 μ l 甲醇复溶, 后加入 5 ml 水稀释混匀, 待净化。

MAX 固相萃取柱依次用 6 ml 甲醇、6 ml 水活化处理, 加入上样液, 依次用 6 ml 5%氨水、6 ml 10% 甲醇水溶液淋洗, 最后用 6 ml 甲酸/甲醇(2/98, v/v) 洗脱。接收洗脱液, 在 40℃条件氮气吹干, 准确加入 1 ml 甲醇定容, 旋涡 1 min 后过孔径为 0.22 μ m 聚四氟乙烯有机滤膜, 滤液供 LC-MS/MS 分析。

1.3.4 贝类毒素的检测 色谱柱: MGII C18 (2.0 mm i.d. \times 100 mm, 5 μ m); 柱温: 35℃; 样品室温度: 4℃; 进样量: 10 μ l; 流动相分为 A、B 两部分, 其中, A 为乙腈(含 1%甲酸和 2 mmol/L 乙酸铵), B 为 100% 水(含 1%甲酸和 2 mmol/L 乙酸铵), 采用梯度洗脱方式, 具体参数见表 1。

表 1 腹泻性贝类毒素梯度洗脱方式
Tab.1 Gradient elution method of DSP

时间 Time(min)	A(%)	B(%)	流速 Flow rate (μ l/min)
0	15	85	300
1	15	85	300
2	90	10	300
6	90	10	300
7	15	85	300
10	15	85	300

离子源: 电喷雾离子源 ESI; 检测方式为选择反应监测(Selected Reaction Monitoring, SRM); 电喷雾电压: 3500 V; 毛细管温度: 350℃; 辅助气压力:

10 psi; 鞘气压力: 30 psi。扫描宽度(m/z): 0.01; 扫描时间: 0.1 s。经测试, GYM 毒素在 ESI⁺源条件下有较高响应, OA、DTX-1、DTX-2 在 ESI⁻条件下有较高响应, 具体参数见表 2。

2 结果与分析

2.1 HP20 树脂在不同吸附时间对毒素吸附能力的影响

比较了 HP20 树脂对 4 种常见腹泻性贝类毒素的吸附效率, 分别检测吸附第 1、3、5、7、9 天树脂内吸附毒素的含量, 结果取 3 组平行实验的平均值, 见表 3。结果显示, HP20 树脂对腹泻性贝毒 OA、DTX-1、DTX-2 三种毒素的吸附效率较好, 随着时间的延长, 树脂对 3 种毒素的吸附量逐渐增加, 在第 7 天接近饱和状态, 吸附效率在 92.1%以上, 随着时间继续延长, 第 9 天的吸附量同第 7 天相比变化不大; HP20 对腹泻性贝毒 GYM 的吸附效率较低, 在第 7 天达到峰值, 为 76.6%, 第 9 天的吸附量同第 7 天相比变化不大。表明 HP20 树脂可以很好地吸附上述 4 种毒素, 树脂在海水中放置 7 d 即达到较好的吸附效果, 可用于后续富集海水中的 4 种毒素。

本研究比较了 D101、SP700 两种树脂对 4 种毒素的吸附效率, 结果显示, D101 型树脂只对 OA 有微量吸附, SP700 型树脂对 OA 和 DTX-1 有少量吸附, 这与李鑫(2013)¹⁾的研究结果相似。而 HP20 大孔型吸附树脂, 能很好地吸附海水中常见的 4 种腹泻性贝类毒素, 但相比较 OA、DTX-1、DTX-2 三种毒素来讲, 对 GYM 的吸收效率偏低, 这是因为 GYM 含有螺环和亚胺结构, 致使 GYM 偏弱碱性(MacKenzie *et al*, 2002)。HP20 大孔型吸附树脂是一类非极性树脂, 主

表 2 4 种毒素质谱分析参数

Tab.2 Parameters of mass spectrometry for four toxins

毒素 Toxin	离子源 ESI mode	母离子 Parent ion (m/z)	子离子 Production ion (m/z)	出峰时间 Retention time (min)	碰撞能量 Collision energy (ev)
GYM	ESI ⁺	508.3	174.2	3.54	39
			490.6*		25
OA	ESI ⁻	803	208.8	4.72	42
			255*		46
DTX-1	ESI ⁻	819.4	810.4*	5.27	55
			783.4		49
			765.6		47
DTX-2	ESI ⁻	803	208.8	4.80	34
			255*		29

* 为定量离子 *. Quantitative ion

1) 李鑫. 液相色谱-质谱联用技术筛查及测定海水和藻体中脂溶性藻毒素. 国家海洋局第一海洋研究所硕士研究生学位论文, 2013

表 3 吸附时间对树脂吸附毒素量的影响
Tab.3 The effect of residence time on quantities of toxins in the resin

毒素种类 Toxin	吸附率 Adsorption rate (%)				
	1 d	3 d	5 d	7 d	9 d
OA	31.5	77.6	97.3	101.3	98.9
DTX-1	29.1	87.5	83.8	101.2	103.3
DTX-2	54.6	88.6	90.4	92.1	93.5
GYM	5.4	32.6	50.4	62.8	76.6

要为苯乙烯聚合物, 又称为芳香族吸附树脂, 其吸附力主要为范德华力与氢键, 而含有亚胺结构的 GYM 形成氢键的能力较弱, 故而 HP20 型树脂对 GYM 的吸附率小于其他 3 种毒素(赵慧, 2012)¹⁾。

2.2 养殖海域中 4 种毒素含量的分布特征

在整个监测期间, 海水中 4 种毒素含量的分布情况见图 1。对监控点的上、中、下 3 层海水中的毒素取平均值, 发现在监控期间内, OA 的含量相对较高, 其次为 DTX-1, GYM 含量在 4 种毒素中相对较低, DTX-2 未检测出。

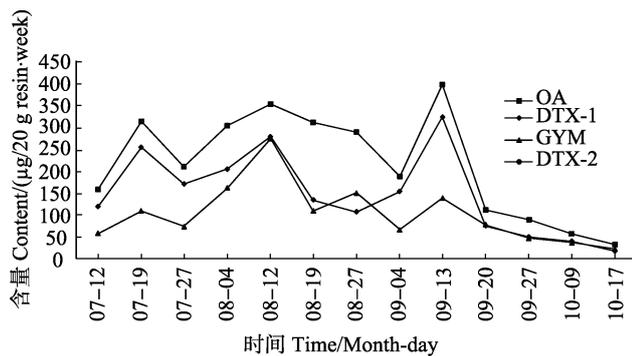


图 1 养殖区内 4 种腹泻性贝类毒素含量的变化
Fig.1 The variation of four DSPs in the oyster farming area

在中国, 目前公认腹泻性贝类毒素中最大的威胁为 OA, 日本也将 OA 作为 LC-MS/MS 检测方法的定量物质, 其他毒素可依据危害转化因子转换为 OA 来定量。本研究发现, 在整个监控期内, OA 的含量均处于较高水平, 而在整个海域内未检测到 DTX-2。DTXs 是一类由鳍藻类产生的腹泻性贝类毒素, 除此之外, 该种藻类还产生 OA 及其衍生物和 PTX, 鳍藻产毒状况存在很大的种间差异, 产生 DTX-2 毒素的藻类主要为 *D. acuta* (尖锐鳍藻) 类, 该种藻类主要分布在爱尔兰、西班牙、斯堪的纳维亚半岛、葡萄牙地域, 它们的产毒能力也随地理分布的差异而有所

不同(罗璇, 2011)²⁾。

2.3 养殖海域内腹泻性贝类毒素含量的变化规律

从 2014 年 7 月 12 日-10 月 17 日对养殖区海水中的腹泻性贝类毒素进行了监测(图 2)。在整个监控期内, 3 种腹泻性贝类毒素整体含量呈先递增后下降的趋势, OA 含量在 8 月 12 日检测点含量最高, 为 422.352 µg/20 g resin-week, DTX-1 毒素在 9 月 13 日最高, 为 368.678 µg/20 g resin-week。GYM 毒素含量在 8 月 12 日检测点最高, 为 282.231 µg/20 g resin-week。在整个监测过程中, 养殖海域内未发现 DTX-2。3 种毒素的峰值均出现在 8-9 月, 其中, GYM 与 OA 的峰值出现在 8 月 12 日, DTX-1 峰值出现在 9 月 13 日。分析原因为海域水体温度偏高引起, 据当地海洋局水文资料显示, 8 月中旬-9 月中旬之间, 该海域内平均水温在 23.5 °C 以上, 7 月之前和 10 月之后, 水温一般在 15.3 °C

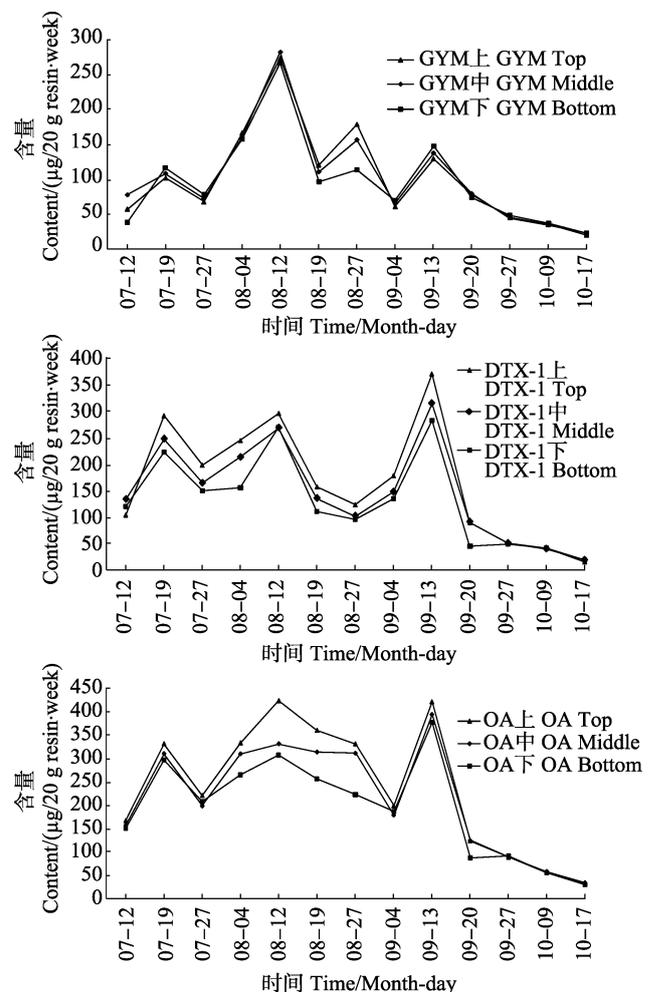


图 2 3 种腹泻性贝类毒素的分布与变化规律
Fig.2 The distribution and variation of three DSPs

1) 赵慧. 微囊藻毒素的树脂吸附与原位监测方法研究. 中国海洋大学硕士研究生学位论文, 2012, 55-59
2) 罗璇. 青岛近海鳍藻种群动态与产毒特征研究. 中国科学院博士研究生学位论文, 2011, 32-40

以下,在较高水体温度下,产毒藻类生长旺盛,新陈代谢活动产生大量毒素,导致水体中毒素含量增高。

在不同水层放置 HP20 树脂吸附袋,结果显示,在 9 月 20 日前,悬挂在上层的树脂中吸附 3 种毒素含量明显高于中、下层,并且呈现上层 > 中层 > 下层的变化特征。说明腹泻性贝类毒素表层水中含有大量毒素,随深度增加,毒素呈现递减趋势。9 月 20 日之后,上、中、下 3 层水层内毒素含量基本相等,海水中毒素整体含量已处于很低的水平。在 8-9 月间不同水层水体中 3 种毒素的含量呈现较大差异,这是因为腹泻性贝类毒素主要是藻类的代谢产生,其含量受到藻类新陈代谢活动的影响,而藻类新陈代谢活动受阳光、温度等影响(赵洪, 2014)¹⁾,在 8-9 月期间,上层水温温度高,藻类新陈代谢活动旺盛,产生毒素含量也相对较高,随水深深度的加深,水温及光照强度都呈现递减趋势,故而不同水层水体中毒素含量呈现该分布规律。8 月之前与 9 月之后,不同水层水体中温度都处于较低水平,藻类新陈代谢活动弱,故呈现上、中、下层含量差异不明显。

此外,产毒藻类繁殖和新陈代谢的强弱还受到海水中营养盐和养料的影响,在 8 月 12 日和 9 月 13 日,受今年第 8 号和 14 号台风的影响,台风导致大洋中的营养盐迁移至近海养殖区,为藻类提供丰富的营养物质,此外,台风带来大量降水,淡水经地表流入近海养殖区,淡水中含有大量的营养成分,加剧了海水的富营养化,导致产毒藻活动旺盛,海水中毒素含量激增。国内也有不少文献报道关于天气原因,如台风、持续低压等天气或气候原因引起赤潮的发生(任湘湘等, 2007),这也解释了在 8 月 12 日和 9 月 13 日 3 种毒素含量呈现 2 个峰值。

2.4 海水中与牡蛎体内贝类毒素之间的相关性

本研究同步测定了生物体牡蛎内的 4 种毒素的含量,并与树脂吸附海水中的毒素进行比较,探究二者之间的相关关系。

实验结果显示,海水中与牡蛎体内贝类毒素的含量呈现正相关关系(图 3),当海水中贝类毒素含量相对高时,牡蛎体内毒素含量也相对较高,每年 10 月至次年 6 月期间,牡蛎体内毒素含量相对较低,这是由于随着气温降低,产毒藻生长繁殖减速,赤潮发生概率低,海洋水体相对安全。

此外,实验结果显示,牡蛎体内 3 种毒素与海水

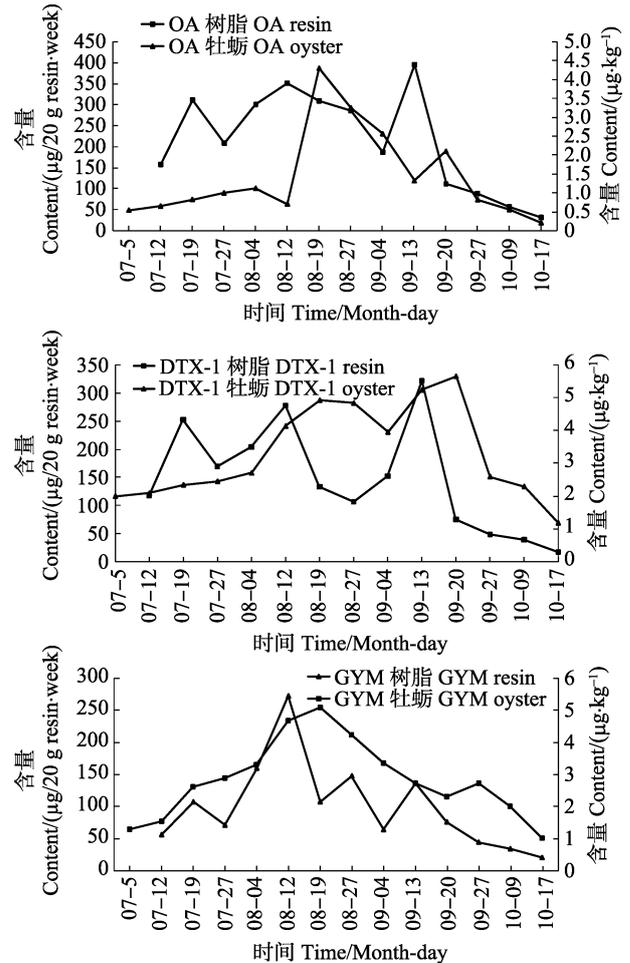


图 3 海水中与牡蛎体内贝类毒素之间的相关性
Fig.3 The correlation between toxins in oysters and those in the seawater

中毒素的含量峰值上出现延后现象,整个监控期内,在 8 月 12 日,海水中这 3 种贝类毒素的含量达到峰值,而牡蛎体内这 3 种腹泻性毒素在 8 月 19 日含量达到峰值,延后约 1 个采样周期的时间,而后呈现下降趋势;在 9 月 13 日,受台风影响,海水中 DTX-1 毒素含量出现急剧增长,此时牡蛎体内毒素含量也呈现急剧增长,而其他 2 种毒素未出现该现象,主要是因为台风带来大量营养物质,致使鳍藻属藻类迅速增长,新陈代谢旺盛,产生大量腹泻性贝类毒素 DTX-1,海水中毒素含量出现增高,而牡蛎主要滤食该种藻类,该种毒素在牡蛎体内迅速富集,从而致使在 9 月 20 日检测到牡蛎体内 DTX-1 毒素含量增高。随着环境中毒素含量逐渐下降,牡蛎体内毒素含量也随之下降,在整个监控期间内,在牡蛎内未检测到 DTX-2。

牡蛎体内与海水中毒素含量峰值上存在延后现

1) 赵洪. 周村水库藻类特征及其在混合胁迫条件下的生长衰亡规律. 扬州大学硕士研究生学位论文, 2014, 76-80

象的原因,主要是牡蛎体内毒素富集与净化需要一定时间,这与 Seubert 等(2012)的研究结果有相似性,海水中出现的鳍藻类毒素达到最大浓度的时间与贻贝中富集 DSP 最高浓度之间有一定的时间差,即为富集时间。曹际娟等(1998)研究发现,牡蛎的富集时间比贻贝稍慢一些;当海水中毒素含量下降时,牡蛎体内毒素出现净化现象,其净化速度也受到环境水温的影响,在双壳贝类中,净化腹泻性贝毒时间一般为 10 d 左右。此外,还有一部分原因是牡蛎内脏团中的藻类被代谢出体外,这也导致牡蛎体内毒素含量出现降低。

3 结论

本研究表明,HP20 大孔吸附树脂能有效富集海水中常见的腹泻性贝类毒素,能够全方位检测海水中贝类毒素的含量。本研究建立了海水中与牡蛎体内贝类毒素含量之间的变化关系,二者之间存在一个采样周期的时间差,这为贝类毒素预警体系的建立提供了数据支持。

参 考 文 献

- 马荣桢,高彦,万进,等. 贝类毒素及检测技术的研究现状. 食品研究与开发, 2013, 34(22): 104-108
- 母清林,方杰,王晓华,等. 液相色谱-串联质谱法检测贝类产品中麻痹性贝类毒素. 中国环境监测, 2013, 39(2): 111-114
- 任湘湘,何恩业,李海,等. 珠江口赤潮生成的天气分型研究. 海洋预报, 2007, 24(3): 46-58
- 李兆新,张婷婷,郭萌萌,等. 贝类毒素固相吸附示踪监测技术研究进展. 渔业科学进展, 2016, 37(5): 162-166
- 周秀锦,周向阳,周斌,等. HPLC 检测记忆缺失性贝毒软骨甲藻酸. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2012, 31(3): 211-214
- 黄翔,雷芳,江天久,等. 我国东海和南海近岸海域腹泻性贝毒污染现状. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2013, 34(1): 101-105
- 曹际娟,唐守亭. 试探应用贻贝进行海洋生物毒素跟踪监测的可行性. 卫生研究, 1998(s1): 105-108
- Caillaud A, Iglesia PDL, Barber E, et al. Monitoring of dissolved ciguatoxin and maitotoxin using solid-phase adsorption toxin tracking devices: application to *Gambierdiscus pacificus* in culture. Harmful Algae, 2011, 10(5): 433-446
- Seubert EL, Trussell S, Eagleton J. Algal toxins and reverse osmosis desalination operations: Laboratory bench testing and field monitoring of domoic acid, saxitoxin, brevetoxin and okadaic acid. Water Research, 2012, 46(19): 6563-6573
- Fux E, Gonzalez-Gil S, Lunven M, et al. Production of diarrhetic shellfish poisoning toxins and pectenotoxins at depths within and below the euphotic zone. Toxicon, 2010, 56(8): 1478-1496
- MacKenzie L, Beuzenberg V, Holland P, et al. Solid phase adsorption toxin tracking (SPATT): a new monitoring tool that simulates the biotoxin contamination of filter feeding bivalves. Toxicon, 2004, 44(8): 901-918
- MacKenzie AL, Holland P, McNabb P, et al. Complex toxin profiles in phytoplankton and Greenshell mussels (*Perna canaliculus*), revealed by LC-MS/MS analysis. Toxicon, 2002, 40(9): 1321-1330
- McCarthy M, van Pelt FNAM, Bane V, et al. Application of passive(SPATT) and active sampling methods in the profiling and monitoring of marine biotoxins. Toxicon, 2014, 89(9): 77-86
- Rodriguez P, Alfonso A, Turrell E, et al. Study of solid phase adsorption of paralytic shellfish poisoning toxins (PSP) onto different resins. Harmful Algae, 2011, 10(5): 447-455

(编辑 冯小花)

Monitoring of Diarrhetic Shellfish Poisons in Aquatic Environment by Solid Phase Adsorbent Toxin Tracking Technology

SU Zhiwei^{1,2}, ZHAO Feng¹, LIU Yuanping³, XU Na⁴, ZHOU Deqing^{1①},
YAO Jianhua⁵, LI Yujin³, LIU Zhimin⁴

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071;

2. College of Food Science & Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306;

3. Rongcheng Taixiang Food Products Co., Ltd., Rongcheng 264300;

4. Weihai Shijin Food Inspection Service Co., Ltd., Rongcheng 264300;

5. Qingdao Centre Testing International Co., Ltd., Qingdao 266101)

Abstract Due to the deteriorating marine environment and the repetitive red tides, harmful pollutions with shellfish toxins have caused increasing concerns. Diarrhetic shellfish poisons (DSP) are one type of the most dangerous shellfish toxins. To develop an effective method of collecting DSP from sea water, we evaluated the adsorption efficiency of HP20 resin for four common diarrhetic shellfish poisons including okadaic acid (OA), dinophysistoxin-1 (DTX-1), dinophysistoxin-2 (DTX-2), and gymnodimine (GYM) in the seawater column, based on the solid phase adsorbent and toxin tracking (SPATT) technology. The distribution of DSPs in the seawater column and their levels in shellfish were measured. We selected five sampling sites in an oyster farming area, collected samples of both the seawater and oysters on a weekly basis, and studied the correlation between the contents of DSPs in the seawater and those in oysters. During a 7-day sampling period, HP-20 resin accumulated showed high adsorption ratios for the four DSPs, which were 98.9%, 103.3%, 93.5%, and 76.6% for OA, DTX-1, DTX-2, and GYM respectively. The DSPs were detected throughout the entire study period except for DTX-2. The concentrations of OA, DTX-1, and GYM were 20.451–422.35 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 15.954–368.678 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and 20.452–282.231 $\mu\text{g}/\text{kg}$ respectively. During the monitoring period, the contents of the three DSPs in the seawater varied temporally and showed a uniform pattern of distribution. The levels of DSPs in oysters were raised along with the increase of DSPs in the seawater with a latent appearance of peak values. These results suggested that our method should be efficient in the simultaneous temporal and spatial monitoring of DSPs in aquatic environments and in shellfish samples. This method may also be applied in DSP early warning system.

Key words Diarrhetic shellfish poisoning; Oyster culture zones; Solid phase adsorbent toxin tracking(SPATT); LC-MS/MS

① Corresponding author: ZHOU Deqing, E-mail: zhoudq@ysfri.ac.cn